

千里光化学成分及抗烟草花叶病毒活性研究

符滔¹,李雅丽¹,张威¹,
吴江梅¹,刘洋¹,罗新香¹,闫晓慧^{1*},胡世俊^{2*}¹西南林业大学生物多样性保护学院 云南省森林灾害预警与控制重点实验室;²西南林业大学林学院,昆明 650233

摘要:对千里光(*Senecio scandens*)化学成分及其抗烟草花叶病毒(TMV)活性进行研究,为开发新型植物病毒抑制剂提供理论依据。综合运用硅胶、凝胶、MCI等多种柱层析方法对千里光地上部分乙酸乙酯萃取物化学成分进行分离,利用NMR、MS鉴定其结构;采用活体半叶枯斑法测定化合物对TMV的抑制活性。从千里光乙酸乙酯萃取物中共分离得到13个化合物,根据其理化性质以及波谱数据分别鉴定为24-烯-环阿尔廷酮(**1**)、 3β -羟基- 7β -甲氧基-5-豆甾烯(**2**)、正三十二烷(**3**)、乌索酸(**4**)、豆甾醇(**5**)、(22E)-ergosta-6,22-diene- $3\beta,5\beta,8\alpha$ -triol(**6**)、山柰酚(**7**)、3-吡啶甲醛(**8**)、泽兰黄酮(**9**)、槲皮素(**10**)、紫杉叶素(**11**)、jacaranone(**12**)、叶绿醇(**13**)。除化合物**7**和化合物**10**外,其余化合物均为首次从该植物中分离得到。活性测定结果表明,化合物**8**和化合物**13**具有较强的抗TMV活性。

关键词:千里光;化学成分;抗烟草花叶病毒活性;半叶枯斑法

中图分类号:R284.1;R965

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2023)9-1554-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.9.009

Chemical constituents of *Senecio scandens* and their anti-tobacco mosaic virus activityFU Tao¹, LI Ya-li¹, ZHANG Wei¹,WU Jiang-mei¹, LIU Yang¹, LUO Xin-xiang¹, YAN Xiao-hui^{1*}, HU Shi-jun^{2*}¹Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control in Yunnan Province, College of Biodiversity Conservation, Southwest Forestry University;²College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650233, China

Abstract: In order to provide a theoretical basis for the development of new plant virus inhibitors, the chemical components of *Senecio scandens* and its activity against tobacco mosaic virus (TMV) were determined. The chemical constituents of the ethyl acetate extract from the aboveground part of *S. scandens* were separated by silica gel, Sephadex LH-20, MCI and other column chromatography methods, and its structures were identified by NMR and MS data. The inhibitory activity of the compound against TMV was screened by the half-leaf spot method *in vivo*. Thirteen compounds were isolated from the ethyl acetate extract of *S. scandens*. According to their physicochemical properties and spectral data, they were identified as 9,19-cyclolanost-24-en-3-one (**1**), 7β -methoxystigmast-5-en- 3β -ol (**2**), dotriacontane (**3**), ursolic acid (**4**), stigmasterol (**5**), (22E)-ergosta-6,22-diene- $3\beta,5\beta,8\alpha$ -triol (**6**), kaempferol (**7**), indole-3-carboxaldehyde (**8**), nepetin (**9**), quercetin (**10**), taxifolin (**11**), jacaranone (**12**), phytol (**13**). Except compound **7** and compound **10**, the other compounds were isolated from this plant for the first time. The results showed that compound **8** and compound **13** had strong anti-TMV activity.

Key words: *Senecio scandens*; chemical constituents; anti-TMV activity; half-leaf method

植物病毒病被称为“植物癌症”,是仅次于植物

真菌病害的第二大植物病害,由于缺乏理想的防治措施,对农业生产造成了巨大的损失,每年由植物病毒造成的经济损失超过100亿美元^[1,2]。烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)是最早发现的单链RNA植物病毒,其寄生范围广泛,涉及有65个科的885种植物,烟草及其他农作物感染TMV后,被感

收稿日期:2023-02-24 接受日期:2023-07-04

基金项目:国家自然科学基金(32160378);云南省应用基础研究重点项目(2019FA011);云南省高层次人才项目(YN-WR-QNBJ-2018-300);云南省森林灾害预警与控制重点实验室开放基金(ZKJS-S-202206)

*通信作者 E-mail:luckyxh@163.com, shijunhu@126.com

染的植株叶片叶绿素会遭到破坏,继而使其光合作用减弱,出现生长困难、矮化等症状,甚至死亡^[3-5]。烟草是我国重要的经济作物,而 TMV 每年都会造成烟草产量和质量的严重损失,据有关数据统计,每年因为烟草花叶病毒造成的经济损失达到一亿美元,且防治 TMV 较为困难,虽已投入使用了多种抗 TMV 的商业抗病毒剂,但有效和实用的品种很少^[6,7]。因此开发高效、低毒的新型抗 TMV 药剂迫在眉睫。

千里光属 (*Senecio*) 作为菊科 (*Asteraceae*) 植物中最大的属,共包括 1 500 多个种,在我国分布的有 160 多种^[8]。千里光 (*Senecio scandens*) 是千里光属多年生植物,茎多曲折呈攀援状,上部多分枝,头状花序,花黄色,叶片呈卵状三角形或椭圆状披针形,主要分布于我国华东、中南及西南各地,多生于丘陵山地林边,灌丛、草丛和路边^[9,10]。千里光是我国传统的中药材,具有清热解毒、明目、利湿的功效,有较好的抗炎、抗菌、抗病毒的作用^[11,12]。

本研究旨在对千里光进行抗 TMV 活性筛选,研究其中具有抗烟草花叶病毒活性的化学成分。从中优选出活性最强的化合物,以此为烟草花叶病的防治提供理论依据,也为千里光植物的资源化利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料、仪器与试剂

1.1.1 植物材料

样品采自云南昆明,经西南林业大学胡世俊副教授鉴定为千里光 (*Senecio scandens* Buch.-Ham), 标本 (QLG2018~11) 存放于西南林业大学森林灾害预警与控制重点实验室。

1.1.2 供试病毒及寄主

TMV (U1) 普通株系,由云南省农业科学院生物技术种质资源研究所提供。繁殖于普通烟 K326 (*Nicotiana tabacum* cv. K326) 上,采用 Gooding^[13] 的方法进行提纯,置于 -70 °C 冰箱中保存备用。心叶烟 (*Nicotiana glutinosa*) 为枯斑寄主,在无虫温室中培育,待烟苗长至 4~6 片真叶时进行活性测定。

1.1.3 仪器

Bruker AM-500, Bruker AV-600 MHz 核磁共振仪 (德国布鲁克公司); Bruker HTC/Esquire 质谱仪 (德国布鲁克公司); LC3000 型半制备高效液相色谱仪 (北京赛普锐思科技有限公司)。

1.1.4 试剂

柱层析硅胶及 GF254 薄层层析硅胶板 (青岛海洋化工厂); 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (瑞典 Amersham Pharmacia Biotech AB 公司); C-18 反向硅胶 (日本 YMC 公司); 色谱纯溶剂甲醇和乙腈 (上海星可高纯溶剂有限公司); 工业乙醇、甲醇、石油醚、乙酸乙酯、氯仿和丙酮经重蒸后使用; 以碘和 5% 的硫酸乙醇溶液为显色剂; 二甲基亚砜 (DMSO) 为分析纯, 8% 宁南霉素水剂购自德强生物股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 植物提取物的制备

千里光地上部分 12.00 kg 干燥后粉碎, 采用 95% 乙醇回流提取 3 次, 每次 3~4 h, 合并三次提取液, 减压浓缩至浸膏状; 将乙醇提取物用蒸馏水溶解后, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇各萃取 3 次, 得相应溶剂萃取物。

1.2.2 化合物的分离

乙酸乙酯萃取物 (414.16 g) 经硅胶 (100~200 目) 柱色谱分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (50:1→1:1) 进行梯度洗脱, 经薄层层析检测, 合并相同组分, 共获得 7 个流分 (Fr. 1~Fr. 7)。

Fr. 1 (2.07 g) 采用葡聚糖凝胶色谱 (氯仿-甲醇 = 1:1), 得到 5 个亚流分 (Fr. 1-1~Fr. 1-5), Fr. 1-4 (0.75 g) 经正相硅胶柱层析, 以正己烷-石油醚 (0:1→100:1) 梯度洗脱, 得到化合物 **1** (12.7 mg)。Fr. 4 (6.56 g) 采用 MCI 小孔树脂除色素, 甲醇-水 (20%→100%) 梯度洗脱, 20% (0.11 g) 经硅胶柱层析, 以石油醚-丙酮 (30:1→5:1) 梯度洗脱, 得到化合物 **3** (8.10 mg); 80% (0.10 g) 采用葡聚糖凝胶色谱 (氯仿-甲醇 = 1:1), 经硅胶柱层析, 以石油醚-乙酸乙酯 (30:1→6:1) 梯度洗脱, 得到化合物 **4** (5.90 mg); 90% (0.80 g) 经硅胶柱层析, 以石油醚-乙酸乙酯 (1:0→5:1) 梯度洗脱后采用葡聚糖凝胶色谱柱 (氯仿-甲醇 = 1:1) 划段, 通过半制备液相色谱分析, 得到化合物 **6** (10.00 mg); 100% (0.39 g) 经硅胶柱层析, 以石油醚-丙酮 (100:1→5:1) 梯度洗脱, 得到化合物 **2** (3.40 mg)、化合物 **5** (2.70 mg)。Fr. 5 (13.30 g) 采用 MCI 小孔树脂除色素, 甲醇-水 (20%→100%) 梯度洗脱, 90% 部分采用葡聚糖凝胶色谱 (甲醇) 划段, 经硅胶柱层析, 以石油醚-乙酸乙酯 (100:1→5:1) 梯度洗脱, 得到化合物 **13** (13.40 mg)。Fr. 6 (21.60 g) 经硅胶柱层析, 以石油醚-乙酸乙酯 (30:1→2:1) 梯度洗脱, 得到 Fr. 6-1~Fr. 6-19,

Fr. 6-19 采用葡聚糖凝胶色谱(氯仿-甲醇 = 1:1) 划段, 采用葡聚糖凝胶色谱(甲醇) 纯化得到化合物 **7** (4.00 mg); Fr. 6-17 采用葡聚糖凝胶色谱(氯仿-甲醇 = 1:1) 划段, 通过半制备液相色谱分析后用葡聚糖凝胶色谱(甲醇) 纯化得到化合物 **8** (18.70 mg)。Fr. 7(24.60 g) 采用 MCI 小孔树脂除色素, 甲醇-水(20% → 100%) 梯度洗脱, 80% 部分(6.70 g) 采用葡聚糖凝胶色谱(甲醇) 分离得到化合物 **9** (2.10 mg) 和 **10** (65.70 mg); 90% 部分(4.30 g) 采用葡聚糖凝胶色谱(甲醇) 划段后, 经硅胶柱层析, 以石油醚-乙酸乙酯(10:1 → 5:1) 梯度洗脱, 得到化合物 **11** (4.50 mg)、**12** (2.30 mg)。

1.2.3 抗 TMV 活性测定

将供试化合物用 DMSO 配置成 10 mg/mL 的母液, 置于 4 °C 冰箱中备用, 采用活体半叶枯斑法测定^[14], 用纯净水将化合物母液稀释到 50 μg/mL 备用。挑选健康长势一致的心叶烟, 每株选取 3 片叶龄和叶片大小相近的上部叶片, 测定其保护作用: 在左半叶涂抹化合物, 右半叶涂抹相同浓度的 DMSO 溶液作对照; 阳性对照植株左半叶涂抹 50 μg/mL 的宁南霉素, 右半叶涂抹相同浓度的 DMSO 溶液; 6 h 后摩擦接种 TMV。治疗作用: 叶片摩擦接种 TMV。6 h 后, 左半叶涂抹化合物, 右半叶涂抹相同浓度的 DMSO 溶液作为对照; 阳性对照设置同上。钝化作用: 将 TMV 400 倍稀释液与化合物充分混合后静置 30 min; 左半叶摩擦接种 TMV 与化合物混合溶液作为处理, 右半叶摩擦接种相同浓度的 DMSO 与 TMV 混合溶液作为对照。以上处理均在无虫温室中培养, 2 ~ 3 d 后叶片出现明显的枯斑症状时, 统计枯斑的数量并由公式“抑制率 = [(对照平均枯斑数 - 处理平均枯斑数) / 对照平均枯斑数] × 100%”计算抑制率。

1.2.4 数据处理

采用 SPSS 20.0 统计软件, 运用 Duncan 检验比较不同处理间的差异, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义, 不同药物处理的组别以变异数分析(ANOVA) 计算, 采用多重比较(LSD)。

2 实验结果

2.1 化合物结构鉴定

化合物 1 白色针晶(氯仿); ESI-MS: m/z 425 $[M + H]^+$; 分子式为 $C_{30}H_{48}O$; 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.09 (1H, s, H-24), 1.70 (3H, s, H-27), 1.60 (3H, s, H-26), 1.10 (3H, s, H-29), 1.09 (3H, s,

H-30), 1.05 (3H, s, H-18), 0.90 (3H, s, H-28), 0.89 (3H, s, H-21), 0.78 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H-19 β), 0.56 (1H, d, $J = 4.3$ Hz, H-19 α); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 33.4 (C-1), 37.5 (C-2), 216.7 (C-3), 50.3 (C-4), 48.5 (C-5), 21.5 (C-6), 25.9 (C-7), 47.2 (C-8), 21.1 (C-9), 26.0 (C-10), 26.7 (C-11), 32.8 (C-12), 45.3 (C-13), 48.7 (C-14), 35.6 (C-15), 28.2 (C-16), 52.3 (C-17), 18.2 (C-18), 29.6 (C-19), 35.9 (C-20), 18.1 (C-21), 36.3 (C-22), 24.9 (C-23), 125.2 (C-24), 131.0 (C-25), 17.0 (C-26), 25.7 (C-27), 22.2 (C-28), 20.8 (C-29), 19.0 (C-30)。以上数据与文献^[15] 报道一致, 故确定化合物为 24-烯-环阿尔廷酮。

化合物 2 无色针状结晶(氯仿); ESI-MS: m/z 467 $[M + Na]^+$; 分子式为 $C_{30}H_{52}O_2$; 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.74 (1H, s, H-6), 3.60 (1H, m, H-3), 3.35 (3H, s, 7- CH_3), 3.28 (1H, s, H-7), 1.50 (3H, m, H-26), 1.25 (3H, m, H-27), 0.98 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 0.86 (3H, m, H-29), 0.65 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 37.2 (C-1), 31.5 (C-2), 71.4 (C-3), 42.3 (C-4), 146.1 (C-5), 120.8 (C-6), 73.9 (C-7), 37.5 (C-8), 42.7 (C-9), 36.2 (C-10), 20.8 (C-11), 39.1 (C-12), 42.1 (C-13), 49.1 (C-14), 24.3 (C-15), 28.3 (C-16), 55.7 (C-17), 11.5 (C-18), 18.3 (C-19), 36.7 (C-20), 18.8 (C-21), 34.0 (C-22), 26.0 (C-23), 45.9 (C-24), 29.2 (C-25), 19.8 (C-26), 19.0 (C-27), 23.1 (C-28), 12.0 (C-29), 56.8 (7-O CH_3)。以上数据与文献^[16,17] 报道一致, 故确定化合物为 3 β -羟基-7 β -甲氧基-5-豆甾烯。

化合物 3 白色片状结晶(氯仿); ESI-MS: m/z 473 $[M + Na]^+$, 分子式为 $C_{32}H_{66}$; 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 1.25 (30 × CH_2), 0.86 (6H, m, 2 × CH_3); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 31.9 (2 × CH_2), 29.7 (24 × CH_2), 29.4 (2 × CH_2), 22.7 (2 × CH_2), 14.1 (2 × CH_3)。数据与文献^[18] 报道一致, 故确定化合物为正三十二烷。

化合物 4 无色针状结晶(氯仿); ESI-MS: m/z 455 $[M - H]^-$, 分子式为 $C_{30}H_{48}O_3$; 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.18 (1H, s, H-12), 3.60 (1H, m, H-3), 1.27 (3H, s, H-27), 1.04 (3H, s, H-25), 0.95 (3H, s, H-23), 0.91 (3H, s, H-24), 0.85 (3H, m, H-29), 0.81 (3H, m, H-30), 0.74 (3H, s, H-26); ^{13}C NMR

(125 MHz, CDCl_3) δ : 38.7 (C-1), 28.1 (C-2), 78.9 (C-3), 39.0 (C-4), 55.2 (C-5), 18.5 (C-6), 33.1 (C-7), 39.4 (C-8), 47.6 (C-9), 36.9 (C-10), 23.5 (C-11), 124.9 (C-12), 138.8 (C-13), 42.2 (C-14), 28.1 (C-15), 24.5 (C-16), 49.2 (C-17), 53.2 (C-18), 39.3 (C-19), 39.4 (C-20), 30.9 (C-21), 37.2 (C-22), 29.3 (C-23), 16.5 (C-24), 14.0 (C-25), 17.0 (C-26), 22.7 (C-27), 182.7 (C-28), 17.0 (C-29), 21.2 (C-30)。以上数据与文献^[19]报道一致,故确定化合物为乌索酸。

化合物 5 无色针状结晶(氯仿);ESI-MS: m/z 431 $[\text{M} + \text{H}]^+$,分子式为 $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_2$; $^1\text{H NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 5.34 (1H, t, $J = 4.6$ Hz, H-6), 5.15 (1H, dd, $J = 15.1, 8.5$ Hz, H-22), 5.01 (1H, dd, $J = 15.1, 8.5$ Hz, H-23), 3.52 (1H, m, H-3), 2.27 (1H, m, H-20), 1.01 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-21), 0.84 (3H, t, $J = 6.3$ Hz, H-29), 0.80 (6H, d, $J = 6.7$ Hz, 26, H-27), 0.70 (3H, s, H-18); $^{13}\text{C NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 37.2 (C-1), 31.7 (C-2), 71.8 (C-3), 42.3 (C-4), 140.7 (C-5), 121.7 (C-6), 31.9 (C-7), 31.7 (C-8), 50.1 (C-9), 36.1 (C-10), 21.1 (C-11), 39.8 (C-12), 42.3 (C-13), 56.8 (C-14), 24.3 (C-15), 28.2 (C-16), 56.0 (C-17), 11.9 (C-18), 19.0 (C-19), 36.1 (C-20), 19.4 (C-21), 138.3 (C-22), 129.3 (C-23), 45.8 (C-24), 29.1 (C-25), 19.8 (C-26), 18.8 (C-27), 23.0 (C-28), 11.9 (C-29)。以上数据与文献^[20]报道一致,故确定化合物为豆甾醇。

化合物 6 黄色无定形粉末;ESI-MS: m/z 453 $[\text{M} + \text{Na}]^+$,分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{O}_3$; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ : 6.47 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-7), 6.21 (3H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 5.24 (1H, dd, $J = 15.4, 7.3$ Hz, H-23), 5.18 (1H, dd, $J = 15.4, 8.1$ Hz, H-22), 3.78 (1H, m, H-3), 1.01 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-28), 0.93 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-21), 0.88 (3H, H-19), 0.84 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-26), 0.83 (3H, s, H-18), 0.81 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-27); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ : 35.7 (C-1), 31.1 (C-2), 66.2 (C-3), 37.7 (C-4), 82.3 (C-5), 136.5 (C-6), 131.1 (C-7), 79.4 (C-8), 38.0 (C-10), 21.3 (C-11), 40.3 (C-12), 45.1 (C-13), 52.7 (C-14), 29.3 (C-15), 24.0 (C-16), 57.0 (C-17), 13.2 (C-18), 18.5 (C-19), 40.5 (C-20), 20.0 (C-21), 132.8 (C-22),

136.4 (C-23), 43.7 (C-24), 33.8 (C-25), 20.3 (C-26), 18.0 (C-27), 21.3 (C-28)。以上数据与文献^[21]报道一致,故确定化合物为(22*E*)-ergosta-6, 22-diene-3 β ,5 β ,8 α -triol。

化合物 7 黄色针状结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 285 $[\text{M}-\text{H}]^-$,分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$; $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.08 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-3', 5'), 6.38 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.17 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6); $^{13}\text{C NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 148.0 (C-2), 137.1 (C-3), 177.4 (C-4), 162.5 (C-5), 99.34 (C-6), 165.9 (C-7), 94.5 (C-8), 158.3 (C-9), 104.5 (C-10), 123.75 (C-1'), 160.6 (C-4'), 130.7 (C-2', C-6'), 116.3 (C-3', C-5')。以上数据与文献^[22]报道一致,故确定化合物为山柰酚。

化合物 8 无色针状结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 144 $[\text{M}-\text{H}]^-$,分子式为 $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 9.87 (1H, s, H-8), 8.15 (1H, t, H-4), 8.08 (1H, s, H-2), 7.47 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-7), 7.27 (1H, m, H-6), 7.22 (1H, m, H-5); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 139.7 (C-2), 120.1 (C-3), 125.7 (C-3a), 125.0 (C-4), 122.4 (C-5), 123.6 (C-6), 113.1 (C-7), 138.9 (C-7a), 187.4 (C-8)。以上数据与文献^[23]报道一致,故确定化合物为3-吡啶甲醛。

化合物 9 淡黄色粉末;ESI-MS: m/z 315 $[\text{M}-\text{H}]^-$,分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.38 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6'), 7.36 (1H, s, H-2'), 6.88 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-5'), 6.55 (1H, s, H-8), 6.53 (1H, s, H-3), 3.86 (3H, s, OCH_3); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 166.5 (C-2), 103.4 (C-3), 184.2 (C-4), 154.0 (C-5), 132.9 (C-6), 158.9 (C-7), 95.3 (C-8), 154.7 (C-9), 105.7 (C-10), 123.7 (C-1'), 114.1 (C-2'), 147.0 (C-3'), 151.0 (C-4'), 116.8 (C-5'), 120.3 (C-6'), 60.9 (6- OCH_3)。以上数据与文献^[24]报道一致,故确定化合物为泽兰黄酮。

化合物 10 黄色针状结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 301 $[\text{M}-\text{H}]^-$,分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.72 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.62 (1H, dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, H-6'), 6.87 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 6.37 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-8), 6.17 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 148.8 (C-2), 137.2 (C-3), 177.3 (C-4),

158.2 (C-5), 99.2 (C-6), 165.6 (C-7), 94.4 (C-8), 162.5 (C-9), 104.5 (C-10), 124.1 (C-1'), 116.0 (C-2'), 146.2 (C-3'), 148.0 (C-4'), 116.2 (C-5'), 121.7 (C-6')。以上数据与文献^[25]报道一致,故确定化合物为槲皮素。

化合物 11 黄色无定形粉末;ESI-MS: m/z 303 $[M-H]^-$,分子式为 $C_{15}H_{12}O_7$; 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.95 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.83 (1H, dd, $J = 8.1, 1.9$ Hz, H-6'), 6.78 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 5.77 (1H, s, H-6, H-8), 4.89 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-2), 4.43 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-3); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 82.8 (C-2), 73.6 (C-3), 196.9 (C-4), 165.3 (C-5), 97.7 (C-6), 173.5 (C-7), 84.9 (C-8), 164.4 (C-9), 100.6 (C-10), 130.2 (C-1'), 116.0 (C-2'), 146.3 (C-3'), 147.0 (C-4'), 115.8 (C-5'), 120.8 (C-6')。以上数据与文献^[26]报道一致,故确定化合物为紫杉素。

化合物 12 黄色无定形粉末;ESI-MS: m/z 223 $[M + Na]^+$,分子式为 $C_9H_{10}O_4$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.05 (1H, d, $J = 10.1$ Hz, H-5), 6.13 (1H, d, $J = 10.1$ Hz, H-6), 3.64 (3H, s, H-9), 2.75 (2H, s, H-7); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 68.0

(C-1), 152.8 (C-2), 128.3 (C-3), 187.4 (C-4), 128.3 (C-5), 152.8 (C-6), 45.7 (C-7), 170.9 (C-8), 52.2 (C-9)。以上数据与文献^[27]报道一致,故确定化合物 jacaranone。

化合物 13 无色油状;ESI-MS: m/z 319 $[M + Na]^+$,分子式为 $C_{20}H_{40}O$; 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.40 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, H-2), 4.14 (2H, d, $J = 6.9$ Hz, H-1), 1.98 (2H, m, H-15), 1.67 (3H, s, H-17), 1.52 (1H, m, H-15), 0.87 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-16), 0.87 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-20), 0.84 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-18), 0.83 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-19); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 59.4 (C-1), 123.1 (C-2), 140.3 (C-3), 39.9 (C-4), 25.1 (C-5), 36.7 (C-6), 32.8 (C-7), 37.4 (C-8), 24.5 (C-9), 37.4 (C-10), 32.7 (C-11), 37.4 (C-12), 24.8 (C-13), 39.4 (C-14), 28.0 (C-15), 22.7 (C-16), 22.6 (C-17), 19.8 (C-18), 19.7 (C-19), 16.2 (C-20)。数据与文献^[28]数据报道一致,故确定化合物为叶绿醇。

从千里光乙酸乙酯萃取物中分离的 13 个化合物的结构式见图 1。

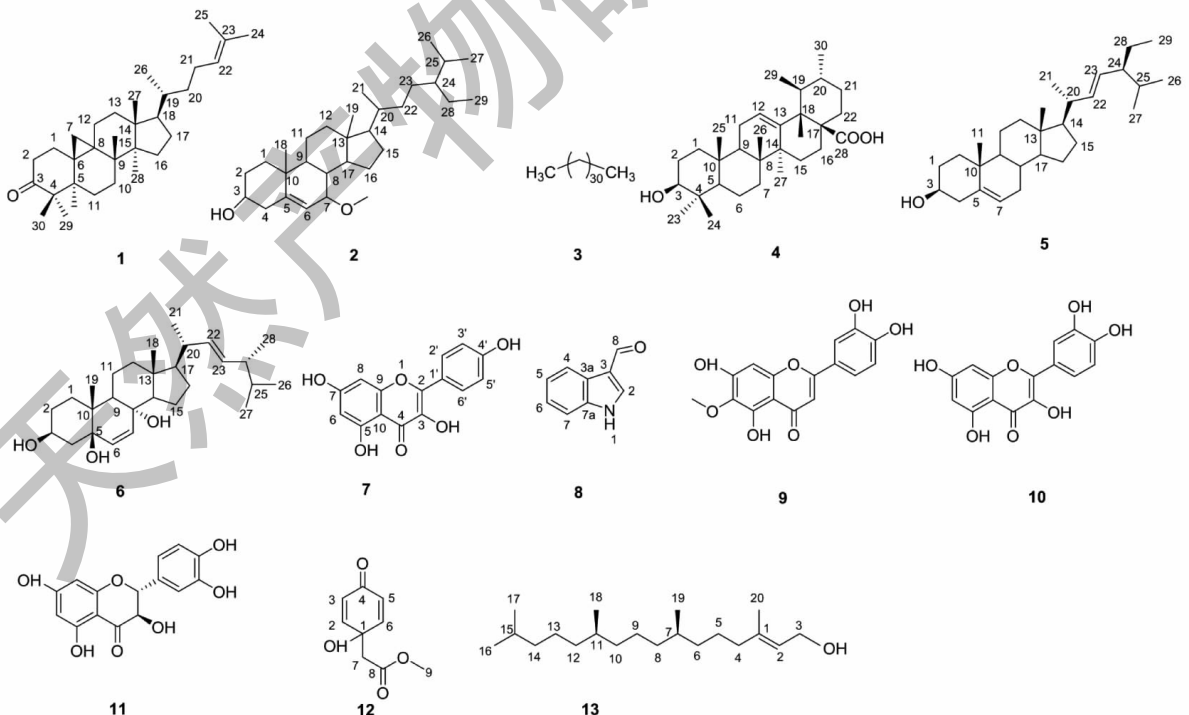


图 1 化合物 1~13 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1-13

2.2 化合物抗 TMV 活性实验结果

分离得到的化合物 **1** ~ **13** 的抗 TMV 活性结果由表 1 所示。化合物 **8** 对心叶烟的保护作用显著高于宁南霉素(见图 2); 化合物 **1**、**4**、**9** ~ **13** 与宁南霉素无显著差异,表明化合物 **1**、**4**、**8** ~ **13** 能诱导烟草获得植物系统抗性抵抗病毒; 化合物 **2**、**3**、**6**、**7** 低于宁南霉素,化合物 **5** 对 TMV 的侵染没有抑制作用。

表 1 化合物 **1** ~ **13** 的抗 TMV 活性结果($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 1 Anti-TMV activities of compounds **1-13** against TMV($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物 Compound	抑制率 Inhibition rate(%)		
	保护作用 Protection effect	治疗作用 Curative effect	钝化作用 Inactivation effect
1	36.69 ± 3.58 ^{bc}	38.01 ± 7.62 ^{bc}	17.36 ± 6.02 ^{de}
2	16.34 ± 3.28 ^d	32.97 ± 2.20 ^e	14.53 ± 5.52 ^{de}
3	9.71 ± 3.79 ^d	9.33 ± 1.36 ^d	18.66 ± 5.51 ^e
4	36.45 ± 10.29 ^{bc}	40.43 ± 3.65 ^{bc}	21.17 ± 2.18 ^{de}
5	—	13.63 ± 2.55 ^d	19.90 ± 2.68 ^{de}
6	13.34 ± 3.31 ^d	42.81 ± 7.69 ^{bc}	26.43 ± 2.21 ^{cde}
7	30.83 ± 2.39 ^c	11.46 ± 1.08 ^d	16.04 ± 1.66 ^{de}
8	54.85 ± 3.54 ^a	—	41.81 ± 3.77 ^{ab}
9	39.21 ± 3.18 ^{bc}	49.08 ± 8.06 ^{ab}	42.90 ± 4.89 ^{ab}
10	37.26 ± 4.45 ^{bc}	35.05 ± 2.05 ^c	16.00 ± 7.04 ^{de}
11	39.29 ± 8.21 ^{bc}	38.43 ± 3.86 ^{bc}	38.41 ± 6.98 ^{bc}
12	46.80 ± 3.95 ^{ab}	34.00 ± 5.87 ^c	27.07 ± 10.40 ^{cd}
13	40.12 ± 5.55 ^{bc}	60.65 ± 4.82 ^a	—
宁南霉素 Ningnanmycin	41.48 ± 2.56 ^{bc}	49.81 ± 0.32 ^{ab}	52.21 ± 1.13 ^a

注:“—”表示无抑制作用,同列不同字母表示数据间差异有统计学意义($P < 0.05$)。

Note:“—” indicates no inhibitory effect, and different letters in the same column indicate statistically significant differences($P < 0.05$).

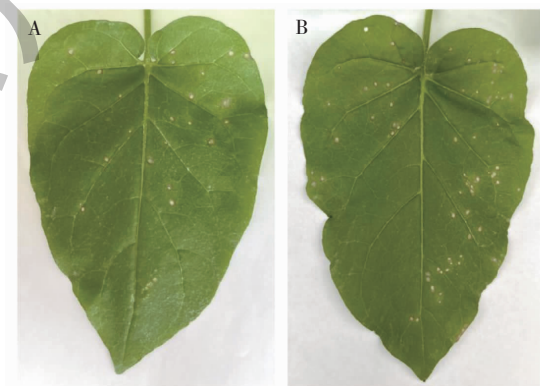


图 2 化合物 **8** 和 **13** 半叶枯斑法部分实验结果

Fig. 2 Partial experimental results of compound **8** and **13** through half-leaf method

注:A. 化合物 **8** 的保护作用;B. 化合物 **13** 的治疗作用。图中左半叶施用化合物进行处理,右半叶为对照。Note:A. Protective effect of compound **8**;B. Therapeutic effect of compound **13**. The left halves were processed with compounds and the right halves were control groups.

3 讨论与结论

植物界产生超过 40 万种次生代谢物^[29], 其中包括可抵抗植物病毒的有效成分, 并且植物自身产生的化学防御物质, 对植物本身有较低的自毒性, 对环境友好。因此从植物中寻找抗 TMV 活性物质是一条十分可行的路线, 近年来, 已有较多报道^[30-32]。

本研究通过运用现代高效的植物化学分离研究方法, 从千里光乙酸乙酯萃取物中分离得到 13 个单体化合物, 除化合物 **7** 和 **10** 外, 其余化合物均为首次从千里光中分离得到。抗烟草花叶病毒活性测试结果发现, 化合物 **8** 对 TMV 侵染的心叶烟的保护作用抑制率显著高于宁南霉素; 化合物 **1**、**4**、**9**~**13** 对心叶烟的保护作用均与宁南霉素无显著差异, 表明这些化合物均可以诱导烟草获得植物系统抗性抵御病毒。化合物 **13** 对烟草感染 TMV 的治疗作用抑制率高于宁南霉素; 化合物 **9** 的抑制率与宁南霉素无显著差异。化合物 **8**、**9** 对 TMV 的体外钝化作用与宁南霉素的抑制率差异不显著, 表明这两个化合物可以直接作用于病毒发挥抗 TMV 作用。

综上所述, 千里光化学成分对 TMV 具有显著的抑制作用, 其中生物碱类、萜类和部分黄酮类化合物显示了较强的抗 TMV 活性, 这类成分是否主要的抗病毒活性成分, 值得进一步探究, 本研究丰富了千里光化学成分和生物活性的范畴, 为今后烟草花叶病的绿色防控提供了一定的科学依据。

参考文献

- Zhao L, Feng CH, Wu K, et al. Advances and prospects in biogenic substances against plant virus: a review [J]. Pestic Biochem Physiol, 2017, 135:15-26.
- Wang J, Hao KQ, Yu FF, et al. Field application of nanoliposomes delivered quercetin by inhibiting specific HSP70 gene expression against plant virus disease [J]. J Nanobiotechnol, 2022, 20:16.
- Zhang Y, Wen LY, Yang AG, et al. Development and application of a molecular marker for TMV resistance based on N gene in tobacco (*Nicotiana tabacum*) [J]. Euphytica, 2017, 213:259.
- Guo WH, Yan H, Ren XY, et al. Berberine induces resistance against tobacco mosaic virus in tobacco [J]. Pest Manag Sci, 2020, 76:1804-1813.
- Yan Y, Tang L, Wang JT, et al. Chemical constituents of *Cynanchum atratum* and their anti-TMV activity [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2020, 32:792-798.

- Fu YF. Research progress on tobacco mosaic virus disease [J]. Beijing Agr (北京农业), 2015, 12:115-117.
- Song PF, Yu XL, Yang WQ, et al. Natural phytoalexin stilbene compound resveratrol and its derivatives as anti-tobacco mosaic virus and anti-phytopathogenic fungus agents [J]. Sci Rep, 2021, 11:16509.
- Liang AH, Ye ZG. General situation of the toxicity researches on *Senecio* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2006, 31:93-97.
- Chen YM, Jiang CM. Characteristic and physicochemical identification of *Solidago decurrens* and *Senecio* [J]. Strait Pharm J (海峡药学), 2018, 30:11-12.
- Zhang XJ. Research on phytochemical constituents in *Senecio scandens* Buch-Ham. [D]. Qingdao: Shandong University (山东大学), 2010.
- Li CX, Li XY, Wang XY, et al. Resource investigation of groundsel, a Chinese medicinal material, in five counties of Southern Sichuan [J]. J Southwest Med Univ (西南医科大学学报), 2019, 42:564-570.
- Li Y, Zhao HB, Meng HT. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of the *Senecio scandens* Buch.-Ham [J]. Guangzhou Chem Ind (广东化工), 2020, 47:75-76.
- Gooding JV, Hebert TT. A simple technique for purification of tobacco mosaic virus in large quantities [J]. Phytopathol, 1967, 57:1285.
- Zuo AJ, Zong TK, Tan YT, et al. Study on anti-tobacco mosaic virus activity of 27 plant extracts [J]. J Southwest Fore Univ; Nat Sci (西南林业大学学报: 自科版), 2020, 40:93-99.
- Wang L, Zhang CF, Layba M, et al. Triterpenes and sterols from *Nauclea latifolia* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2011, 36:2511-2514.
- Zhu Y, Yang L, Jia ZJ. Epoxide bisabolane sesquiterpenes from *Cremanthodium discoideum* [C]//Committee of the Magnetic Resonance Spectroscopy Chinese Physical Society. Proceeding of the 10th National Magnetic Resonance Conference (第十届全国波谱学学术会议论文摘要集), 1998: 119-120.
- Liu C, Sun H, Wang WT, et al. Chemical constituents of *Euphorbia lunulata* [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2015, 38:514-517.
- Zhang QJ, Yang XS, Zhu HY, et al. Liposoluble constituents from *Dendrolobium triangulare* (Retz.) Schindl [J]. J Guizhou Univ; Nat Sci (贵州大学学报: 自科版), 2006, 23: 270-271.
- Sun LN, Hong YF, Guo XM, et al. Studies on the chemical

- constituents of *Chaenomeles sinensis* (Thouin.) Koehne [J]. Acad J Second Milit Med Univ (第二军医大学学报), 1999, 20:752-754.
- 20 Yang XW, Lv Q, Xu QX, et al. Study on chemical constituents from cyclohexane soluble part of *Psoraleae Fructus* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2022, 53:3269-3279.
- 21 Song L, Wang X F, Wu Y, et al. Chemical constituents from the linseed meal [J]. Fitoterapia, 2014, 97:15-22.
- 22 Wang N, Zhu B, Sheng HF, et al. Studies on chemical constituents of *Rumex nepalensis* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2011, 17:132-136.
- 23 Li X, Song SJ, Piao SJ, et al. Studies on chemical constituents of marine sponge *Aplysinopsis* sp. [J]. Chin J Mar Drugs (中国海洋药物), 2009, 28:21-25.
- 24 Garayev E, Di Giorgio C, Herbet G, et al. Bioassay-guided isolation and UHPLC-DAD-ESI-MS/MS quantification of potential anti-inflammatory phenolic compounds from flowers of *Inula montana* L [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 226:176-184.
- 25 Li YL, Li KM, Su MX, et al. Studies on antiviral constituents in stems and leaves of *Pithecellobium clypearia* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2006, 31:397-400.
- 26 Joo SJ, Park HJ, Park JH, et al. Flavonoids from *Machilus japonica* stems and their inhibitory effects on LDL oxidation [J]. Int J Mol Sci, 2014, 15:16418-16429.
- 27 Sun CZ, Ma N, Wang YJ, et al. Isolation and Identification of chemical constituents of *Forsythia suspensa*. [J]. Chin J Med Chem (中国药物化学杂志), 2021, 31:286-291.
- 28 Brown GD. Phytene-1,2-diol from *Artemisia annua* [J]. Phytochemistry, 1994, 36:1553-1554.
- 29 Zhao L, Feng CH, Wu K, et al. Advances and prospects in biogenic substances against plant virus: a review [J]. Pestic Biochem Physiol, 2017, 135:15-26.
- 30 Cai L, Zhang W, Jia HY, et al. Plant-derived compounds: a potential source of drugs against tobacco mosaic virus [J]. Pestic Biochem Physiol, 2020, 169:104589.
- 31 Li YT, Ye SW, Hu ZL, et al. Identification of anti-TMV active flavonoid glycosides and their mode of action on virus particles from *Clematis lasiantha* Maxim [J]. Pest Manag Sci, 2021, 77:5268-5277.
- 32 Tang P, Chen J, Yan Y, et al. Chemical constituents and anti-TMV activity of the roots and stems of *Cynanchum paniculatum* in Guizhou province [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2020, 32:989-994.